

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. : ตารางต่างๆ

ตารางผนวกที่ 1 ส่วนประกอบของน้ำยาดัดแบ่งตัวอ่อน

ส่วนประกอบ	สูตร โครงสร้าง	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
Calcium chloride	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.050
Magnesium chloride	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.040
Potassium chloride	Kcl	0.200
Potassium phostphate, monobasic	KH_2PO_4	0.200
Sodium chloride	NaCl	8.000
Sodium phostphate, dibasic	Na_2HPO_4	1.150
Penicillin-G, sodium salt		0.050
Streptomycin sulphate		0.025
Sucrose		70.000
Ethylenediaminetetraacetic acid	$\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.0015

แหล่งที่มา : Herr และคณะ (1993)

ตารางผนวกที่ 2 ส่วนประกอบของน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนชนิด TCM-199

ส่วนประกอบ
Earle's salts
L-glutamine
25 mM HEPES
Phenol red
Sodium bicarbonate concentration 2.2 g/L
Liquid

แหล่งที่มา: GibcoBRL, 1995

ตารางผนวกที่ 3 ส่วนประกอบของน้ำยาเก็บรักษาดัวอ่อนชนิด DPBS (holding medium)

ส่วนประกอบ	สูตร โครงสร้าง	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
Calcium chloride (anhydride)	CaCl_2 (anhyd.)	0.10
Potassium chloride	Kcl	0.20
Potassium phosphate, monobasic	KH_2PO_4	0.20
Magnesium chloride (anhydride)	MgCl_2 (anhyd.)	-
Magnesium chloride	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.10
Sodium chloride	NaCl	8.00
Sodium phosphate, dibasic	Na_2HPO_4	-
Sodium phosphate	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.16
Phenol Red		-
D-Glucose		1.00
Sodium Pyruvate		0.036

แหล่งที่มา: GibcoBRL, 1995

ตารางผนวกที่ 4 การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของอาหารเลี้ยงตัวอ่อนต่อความสามารถในการมีชีวิต
รอดของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครึ่ง

ระยะการเจริญของตัวอ่อน	ความสามารถในการมีชีวิตรอด		
	Hec-2 holding	TCM-199	DPBS
morula	5/22 (22.73)	0/4 (0)	0/2 (0)
blastocyst	2/12 (16.67)	2/4 (50.00)	0/2 (0)
expanded blastocyst	3/4 (75.00)	4/8 (50.00)	10/16 (62.50)
hatched blastocyst	1/4 (25.00)	6/8 (75.00)	2/4 (50.00)

อัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนในระยะการเจริญเดียวกันเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนต่างชนิดกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)

ตัวเลขในวงเล็บแสดงอัตราการมีชีวิตรอด โดยคำนวณจากตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งที่มีชีวิตรอด/จำนวนตัวอ่อนตัดแบ่งครึ่งระยะนั้นที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนชนิดนั้นๆ

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ
ต่างๆ

Source	df	S.S.	M.S.	F	Pr > F
Stage	4	161.86	40.46	10.55	0.0001
Error	220	843.56	3.83		
Total	224	1005.42			

C.V. = 73.58

ตารางผนวกที่ 6 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งที่
ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ morula เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่างกัน

สูตรอาหาร	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน	28	2	30
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.05 % solcoseryl [®]	28	2	30
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.1 % solcoseryl [®]	31	1	32
รวม	87	5	92

$$E1 = (87 \times 30) / 92 = 28.37$$

$$E2 = (87 \times 30) / 92 = 28.37$$

$$E3 = (87 \times 32) / 92 = 30.26$$

$$E4 = (5 \times 30) / 92 = 1.63$$

$$E5 = (5 \times 30) / 92 = 1.63$$

$$E6 = (5 \times 32) / 92 = 1.74$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\begin{aligned} \chi^2 &= [(28-28.37)^2/28.37] + [(28-28.37)^2/28.37] + [(31-30.26)^2/30.26] + [(2-1.63)^2/1.63] + \\ &\quad [(2-1.63)^2/1.63] + [(1-1.74)^2/1.74] \\ &= 0.51 \end{aligned}$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 2$$

จากตาราง $df = 2$ ที่ $0.05 = 5.99$

$$0.01 = 9.21$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 7 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนเพาะตัดแบ่งครั้งที่
ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ early blastocyst เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง
กัน

สูตรอาหาร	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน	10	2	12
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.05 % solcoseryl [®]	10	4	14
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.1 % solcoseryl [®]	11	5	16
รวม	31	11	42

$$E1 = (12 \times 31) / 42 = 8.86$$

$$E2 = (14 \times 31) / 42 = 10.33$$

$$E3 = (16 \times 31) / 42 = 11.81$$

$$E4 = (12 \times 11) / 42 = 3.14$$

$$E5 = (14 \times 11) / 42 = 3.67$$

$$E6 = (16 \times 11) / 42 = 4.19$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_i)^2 / E_i$$

$$\chi^2 = [(10-8.86)^2/8.86] + [(10-10.33)^2/10.33] + [(11-11.81)^2/11.81] + [(2-3.14)^2/3.14] +$$

$$[(4-3.67)^2/3.67] + [(5-4.19)^2/4.19]$$

$$= 0.82$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 2$$

จากตาราง $df = 2$ ที่ $0.05 = 5.99$

$$0.01 = 9.21$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 8 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของของตัวอ่อนแพะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ blastocyst เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง
กัน

สูตรอาหาร	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน	13	3	16
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.05 % solcoseryl [®]	12	6	18
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.1 % solcoseryl [®]	9	7	16
รวม	34	16	50

$$E1 = (16 \times 34) / 50 = 10.88$$

$$E2 = (18 \times 34) / 50 = 12.24$$

$$E3 = (16 \times 34) / 50 = 10.88$$

$$E4 = (16 \times 16) / 50 = 5.12$$

$$E5 = (18 \times 16) / 50 = 5.76$$

$$E6 = (16 \times 16) / 50 = 5.12$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\begin{aligned} \chi^2 &= [(13-10.88)^2/10.88] + [(12-12.24)^2/12.24] + [(9-10.88)^2/10.88] + [(3-5.12)^2/5.12] + \\ &\quad [(6-5.76)^2/5.76] + [(7-5.12)^2/5.12] \\ &= 2.32 \end{aligned}$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 2$$

จากตาราง $df = 2$ ที่ $0.05 = 5.99$

$$0.01 = 9.21$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 9 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของของตัวอ่อนเพาะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst เมื่อเลี้ยงใน
อาหารสูตรต่างกัน

สูตรอาหาร	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน	20	38	58
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.05 % solcoseryl [®]	17	39	56
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.1 % solcoseryl [®]	15	39	54
รวม	52	116	168

$$E1 = (58 \times 52) / 168 = 17.95$$

$$E2 = (56 \times 52) / 168 = 17.33$$

$$E3 = (54 \times 52) / 168 = 16.71$$

$$E4 = (58 \times 116) / 168 = 40.05$$

$$E5 = (56 \times 116) / 168 = 38.67$$

$$E6 = (54 \times 116) / 168 = 37.29$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\chi^2 = [(20-17.95)^2/17.95] + [(17-17.33)^2/17.33] + [(15-16.71)^2/16.71] + [(38-40.05)^2/40.05] + [(39-38.67)^2/38.67] + [(39-37.29)^2/37.29]$$

$$= 0.60$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 2$$

จากตาราง $df = 2$ ที่ $0.05 = 5.99$

$$0.01 = 9.21$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 10 การทดสอบ Chi-square ของอัตราการมีชีวิตรอดของของตัวอ่อนเพาะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst เมื่อเลี้ยงในอาหาร
สูตรต่างกัน

สูตรอาหาร	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน	16	18	34
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.05 % solcoseryl [®]	9	23	32
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน + 0.1 % solcoseryl [®]	9	23	32
รวม	34	64	98

$$E1 = (34 \times 34) / 98 = 11.80$$

$$E2 = (32 \times 34) / 98 = 11.10$$

$$E3 = (32 \times 34) / 98 = 11.10$$

$$E4 = (34 \times 64) / 98 = 22.20$$

$$E5 = (32 \times 64) / 98 = 20.90$$

$$E6 = (32 \times 64) / 98 = 20.90$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\chi^2 = [(16-11.80)^2/11.80] + [(9-11.10)^2/11.10] + [(9-11.10)^2/11.10] + [(18-22.20)^2/22.20] + [(23-20.90)^2/20.90] + [(23-20.90)^2/20.90]$$

$$= 3.51$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 2$$

จากตาราง $df = 2$ ที่ $0.05 = 5.99$

$$0.01 = 9.21$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 11 การทดสอบ Chi-square ผลของการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนที่ได้จากตัวอ่อนระยะต่างๆ ต่ออัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนเพาะตัดแบ่งครั้งเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

ระยะการเจริญของตัวอ่อน	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
Morula	87	5	92
Early blastocyst	31	11	42
Blastocyst	34	16	50
Expanded blastocyst	52	116	168
Hatched blastocyst	34	64	98
รวม	238	212	450

$$E1 = (92 \times 238) / 450 = 48.66$$

$$E2 = (42 \times 238) / 450 = 22.21$$

$$E3 = (50 \times 238) / 450 = 26.44$$

$$E4 = (168 \times 238) / 450 = 88.85$$

$$E5 = (98 \times 238) / 450 = 51.83$$

$$E6 = (92 \times 212) / 450 = 43.34$$

$$E7 = (42 \times 212) / 450 = 19.79$$

$$E8 = (50 \times 212) / 450 = 23.56$$

$$E9 = (168 \times 212) / 450 = 79.15$$

$$E10 = (98 \times 212) / 450 = 46.17$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_i)^2 / E_i$$

$$\chi^2 = [(87-48.66)^2/48.66] + [(31-22.21)^2/22.21] + [(34-26.44)^2/26.44] +$$

$$[(52-88.53)^2/88.53] + [(34-51.83)^2/51.83] + [(5-43.34)^2/43.34] +$$

$$[(11-19.79)^2/19.79] + [(16-23.56)^2/23.56] + [(116-79.15)^2/79.15] + [(64-46.17)^2/46.17]$$

$$= 121.56$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 4$$

จากตาราง $df = 4$ ที่ $0.05 = 9.49$

$$0.01 = 13.28$$

แสดงว่าไม่ยอมรับ null hypothesis มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 12 การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ
 ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ morula คุณภาพระดับดีเยี่ยม และดีหลังเลี้ยง
 ในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

คุณภาพของตัวอ่อนก่อนนำมาตัดแบ่งครั้ง	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
ดีเยี่ยม	30	0	30
ดี	57	5	62
รวม	87	5	92

$$E1 = (30 \times 87) / 92 = 28.37$$

$$E2 = (62 \times 87) / 92 = 58.63$$

$$E3 = (30 \times 5) / 92 = 1.63$$

$$E4 = (62 \times 5) / 92 = 3.37$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_i)^2 / E_i$$

$$\chi^2 = [(30 - 28.37)^2 / 28.37] + [(57 - 58.63)^2 / 58.63] + [(0 - 1.63)^2 / 1.63] + [(5 - 3.37)^2 / 3.37]$$

$$= 2.56$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 1$$

จากตาราง $df = 1$ ที่ $0.05 = 3.84$

$$0.01 = 6.63$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 13 การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ
ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ early blastocyst คุณภาพระดับดีเยี่ยม และดี
หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

คุณภาพของตัวอ่อนก่อนนำมาตัดแบ่งครั้ง	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
ดีเยี่ยม	19	3	22
ดี	12	8	20
รวม	31	11	42

$$E1 = (22 \times 31) / 42 = 16.24$$

$$E2 = (20 \times 31) / 42 = 14.76$$

$$E3 = (22 \times 11) / 42 = 5.76$$

$$E4 = (20 \times 11) / 42 = 5.24$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\chi^2 = [(19 - 16.24)^2 / 16.24] + [(12 - 14.76)^2 / 14.76] + [(3 - 5.76)^2 / 5.76] + [(8 - 5.24)^2 / 5.24]$$

$$= 3.77$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 1$$

จากตาราง $df = 1$ ที่ $0.05 = 3.84$

$$0.01 = 6.63$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 14 การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ
 คัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ blastocyst คุณภาพระดับดีเยี่ยม และดี หลัง
 เลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

คุณภาพของตัวอ่อนก่อนนำมาคัดแบ่งครั้ง	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
ดีเยี่ยม	22	12	34
ดี	12	4	16
รวม	34	16	50

$$E1 = (34 \times 34) / 50 = 23.12$$

$$E2 = (16 \times 34) / 50 = 10.88$$

$$E3 = (34 \times 16) / 50 = 10.88$$

$$E4 = (16 \times 16) / 50 = 5.12$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_i)^2 / E_i$$

$$\chi^2 = [(22-23.12)^2 / 23.12] + [(12-10.88)^2 / 10.88] + [(12-10.88)^2 / 10.88] + [(4-5.12)^2 / 5.12]$$

$$= 0.53$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 1$$

จากตาราง $df = 1$ ที่ $0.05 = 3.84$

$$0.01 = 6.63$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 15 การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ
ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst คุณภาพระดับดีเยี่ยม
และดี หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

คุณภาพของตัวอ่อนก่อนนำมาตัดแบ่งครั้ง	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
ดีเยี่ยม	36	88	124
ดี	16	28	44
รวม	52	116	168

$$E1 = (124 \times 52) / 168 = 39.12$$

$$E2 = (44 \times 52) / 168 = 13.88$$

$$E3 = (124 \times 116) / 168 = 84.88$$

$$E4 = (44 \times 116) / 168 = 30.12$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\chi^2 = [(36 - 39.12)^2 / 39.12] + [(16 - 13.88)^2 / 13.88] + [(88 - 84.88)^2 / 84.88] + [(28 - 30.12)^2 / 30.12]$$

$$= 1.39$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 1$$

จากตาราง $df = 1$ ที่ $0.05 = 3.84$

$$0.01 = 6.63$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 16 การทดสอบ Chi-square เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนแพะ
ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst คุณภาพระดับดีเยี่ยม และ
ดี หลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

คุณภาพของตัวอ่อนก่อนนำมาตัดแบ่งครั้ง	ไม่มีชีวิตรอด	มีชีวิตรอด	รวม
ดีเยี่ยม	19	41	60
ดี	15	23	38
รวม	34	64	98

$$E1 = (60 \times 34) / 98 = 20.82$$

$$E2 = (38 \times 34) / 98 = 13.18$$

$$E3 = (60 \times 64) / 98 = 39.18$$

$$E4 = (38 \times 64) / 98 = 24.82$$

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_j)^2 / E_j$$

$$\chi^2 = [(19-20.82)^2 / 20.82] + [(15-13.18)^2 / 13.18] + [(41-39.18)^2 / 39.18] + [(23-24.82)^2 / 24.82]$$

$$= 0.63$$

$$df = (R-1)(C-1)$$

$$= 1$$

จากตาราง $df = 1$ ที่ $0.05 = 3.84$

$$0.01 = 6.63$$

แสดงว่ายอมรับ null hypothesis ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะ
ตัดแบ่งครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ morula ต่อคุณภาพของ
ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.0000	0.0000	0.00	1.00
Error	3	0.0028	0.0009		
Total	4	0.0028			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	0.0119	0.32	0.7688	0.0370	
Split	0.0000	0.00	1.0000	0.0069	

C.V. = 258.199

ตารางผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ early blastocyst ต่อคุณภาพของ
ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.0312	0.0312	3.85	0.3000
Error	1	0.0081	0.0081		
Total	2	0.0394			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	-0.2868	-0.89	0.5374	0.3226	
Split	0.1250	1.96	0.3000	0.0637	

C.V. = 26.62

ตารางผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ blastocyst ต่อคุณภาพของตัวอ่อน
แพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.6250	0.6250	29.59	0.0122
Error	3	0.0634	0.0211		
Total	4	0.6884			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	-0.8816	-3.69	0.0345	0.2388	
Split	0.2500	5.44	0.0122	0.0459	

C.V. = 39.45

ตารางผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ expanded blastocyst ต่อคุณภาพของ
ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	3.3703	3.3703	188.06	0.0001
Error	5	0.0896	0.0179		
Total	6	3.4599			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	-0.7469	-5.48	0.0028	0.1362	
Split	0.3469	13.71	0.0001	0.0253	

C.V. = 13.55

ตารางผนวกที่ 21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่ง
ครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ hatched blastocyst ต่อคุณภาพของ
ตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.3062	0.3062	4.71	0.1185
Error	3	0.1952	0.0651		
Total	4	0.5015			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	0.0006	0.00	0.9990	0.4191	
Split	0.1750	2.17	0.1185	0.0807	

C.V. = 29.13

ตารางผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนระยะ
morula ต่อคุณภาพของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.0003	0.0003	0.01	0.9389
Error	1	0.0374	0.0374		
Total	2	0.0377			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	0.1184	0.40	0.7573	0.2954	
Split	-0.0132	-0.10	0.9389	0.1367	

C.V. = 209.96

ตารางผนวกที่ 23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน
ระยะ early blastocyst ต่อคุณภาพของตัวอ่อนเพาะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงใน
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.0703	0.0703	.	.
Error	0	.	.		
Total	1	0.0703			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	0.7500	9999.99	0.0	0	
Split	-0.3750	-9999.99	0.0	0	

C.V. = 0

ตารางผนวกที่ 24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน
ระยะ blastocyst ต่อคุณภาพของ ตัวอ่อนเพาะตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหาร
เลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.0019	0.0019	0.03	0.8852
Error	2	0.1446	0.0723		
Total	3	0.1465			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	0.2559	0.78	0.5183	0.3293	
Split	0.0196	0.16	0.8852	0.1202	

C.V. = 88.13

ตารางผนวกที่ 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน
ระยะ expanded blastocyst ต่อคุณภาพของตัวอ่อนและตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงใน
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.4660	0.4660	2.35	0.2231
Error	3	0.5961	0.1987		
Total	4	1.0621			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	1.5587	3.33	0.0446	0.4675	
Split	-0.2159	-1.53	0.2231	0.1410	

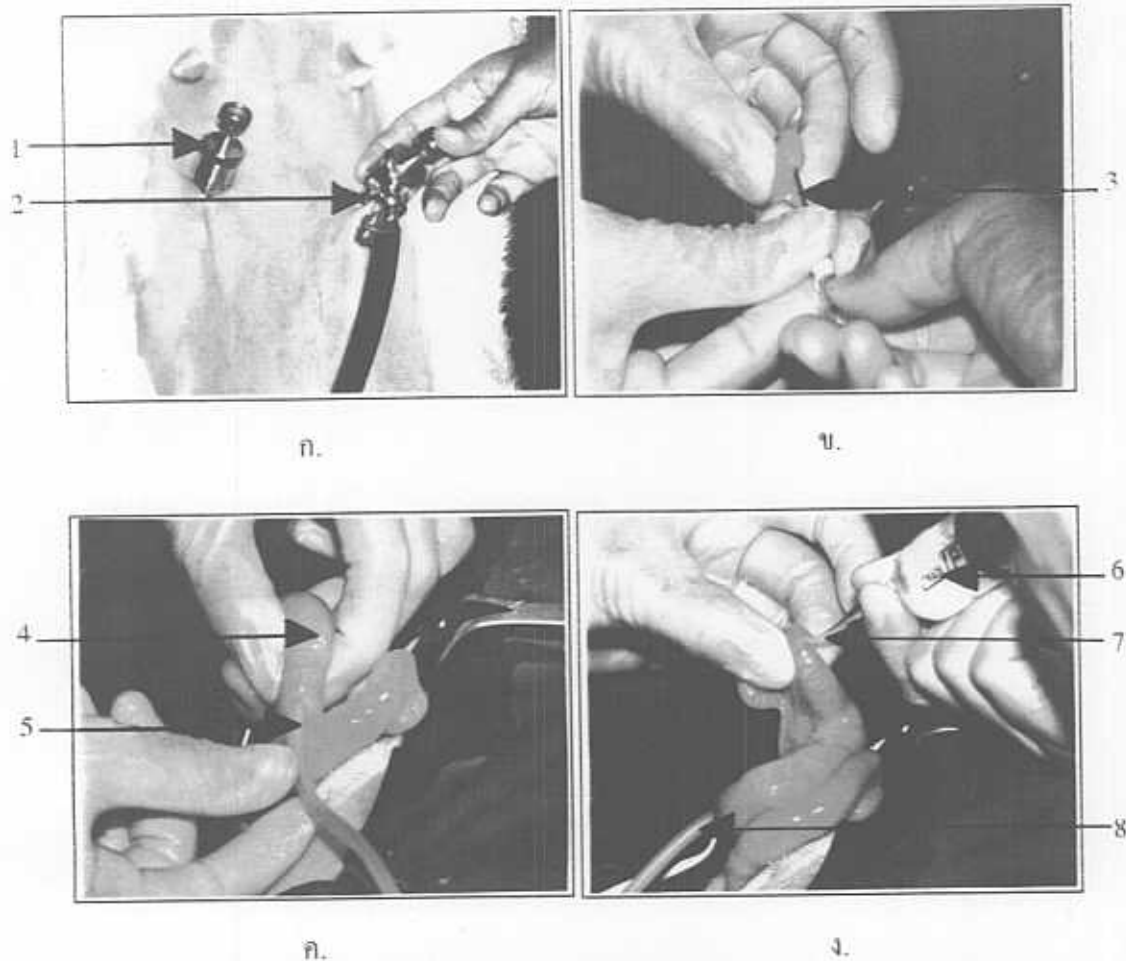
C.V. = 48.93

ตารางผนวกที่ 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน
ระยะ hatched blastocyst ต่อคุณภาพของ ตัวอ่อนและตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงใน
อาหารเลี้ยงตัวอ่อน

Source	df	S.S.	M.S.	F Value	Pr > F
Model	1	0.1558	0.1558	10.37	0.0844
Error	2	0.0300	0.0150		
Total	3	0.1859			
	Estimate	T for HO: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate	
Intercept	0.7804	5.20	0.0351	0.1501	
Split	0.1765	3.22	0.0844	0.0548	

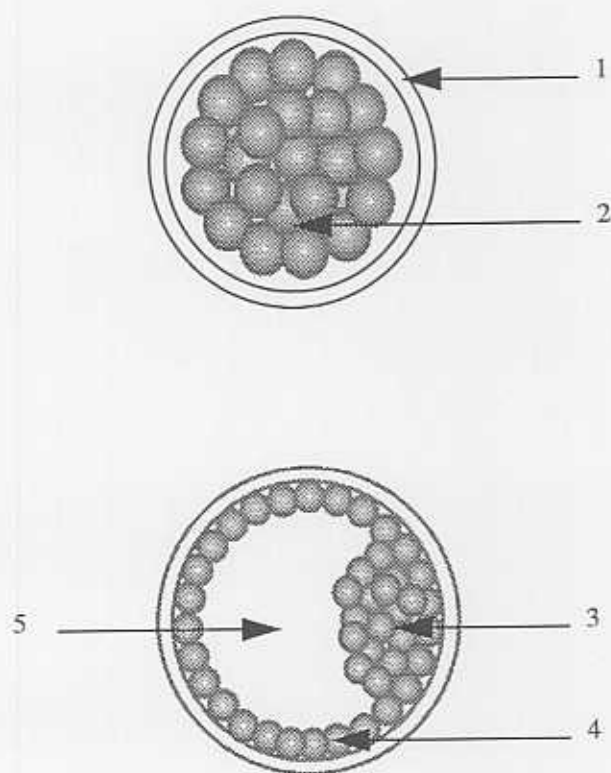
C.V. = 10.03

ภาคผนวก ข. : ภาพต่างๆ



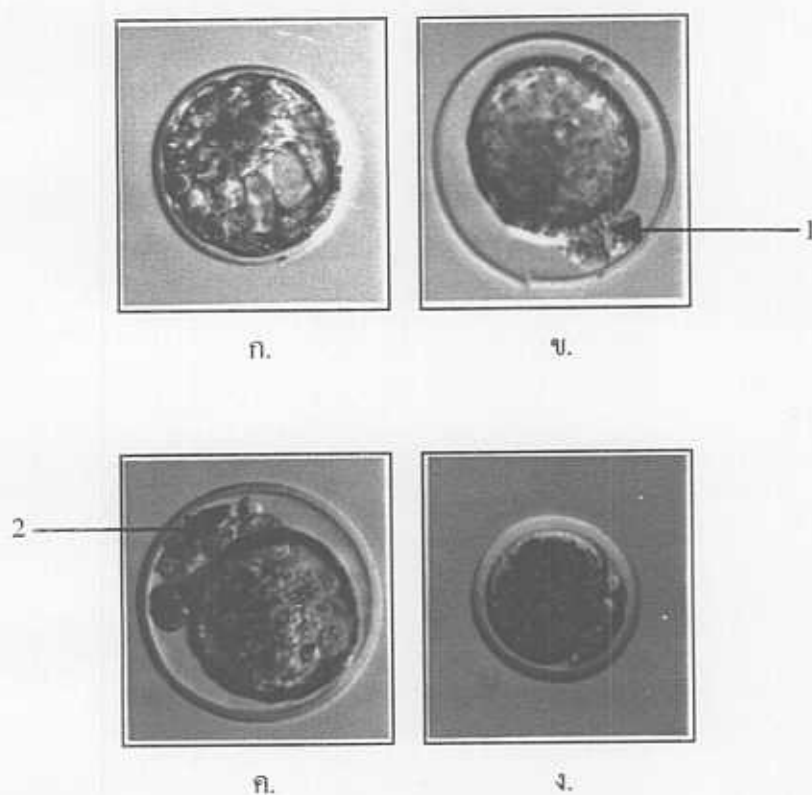
ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการชะล้างตัวอ่อนในแพะ

- ก. การเจาะช่องท้องเพื่อตรวจสอบการตกไข่ โดยด้านซ้าย (1) สำหรับใส่กล้องส่องตรวจภายใน และด้านขวา (2) สำหรับใส่แท่งเหล็กเพื่อเชื่อมต่อสายภายในช่องท้อง และใส่กาชเข้าไปภายในช่องท้องเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการตรวจภายใน
- ข. การใช้ troca canula (3) เจาะบริเวณส่วปลายปีกมดลูกเพื่อใช้เป็นช่องทางในการใส่น้ำยาชะล้างตัวอ่อน
- ค. การสอดท่อ two-way foley (5) บริเวณส่วนต้นของปีกมดลูก (4)
- ง. การชะล้างตัวอ่อน โดยฉีดน้ำยาชะล้างตัวอ่อน (6) เข้าทาง canula (7) ที่อยู่ที่ส่วนปลายของปีกมดลูก น้ำยาชะล้างตัวอ่อนจะออกมาทางท่อ two-way foley (8) ซึ่งมีขวดแก้วรองรับ



ภาพผนวกที่ 2 ตัวอย่างการจำแนกโครงสร้างของตัวอ่อน

- ก. ตัวอ่อนระยะ morula มี zona pellucida (1) และสามารถจำแนกแต่ละ blastomere (2) ได้
- ข. ตัวอ่อนระยะ blastocyst สามารถจำแนกส่วน inner cell mass (3) ส่วน trophoblast (4) และมองเห็นช่องว่าง blastocoele ได้ชัดเจน (5)



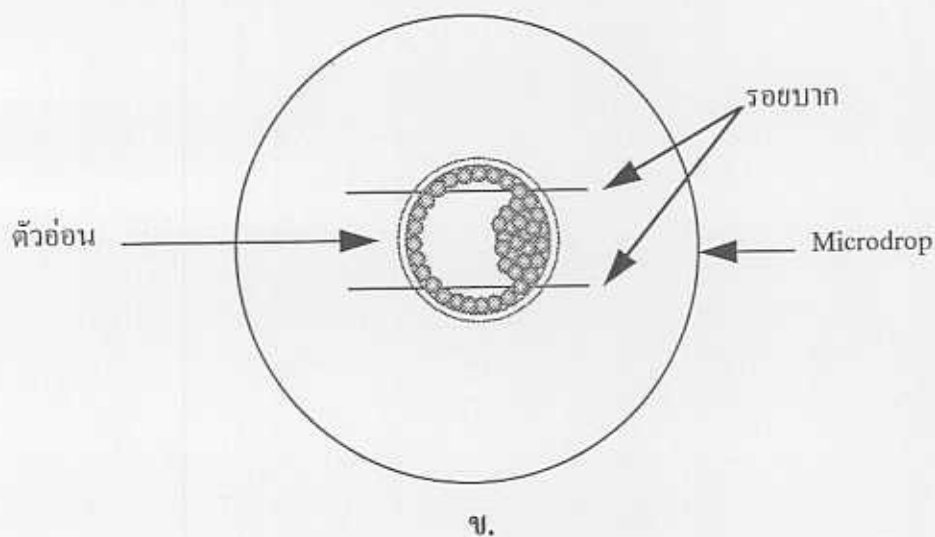
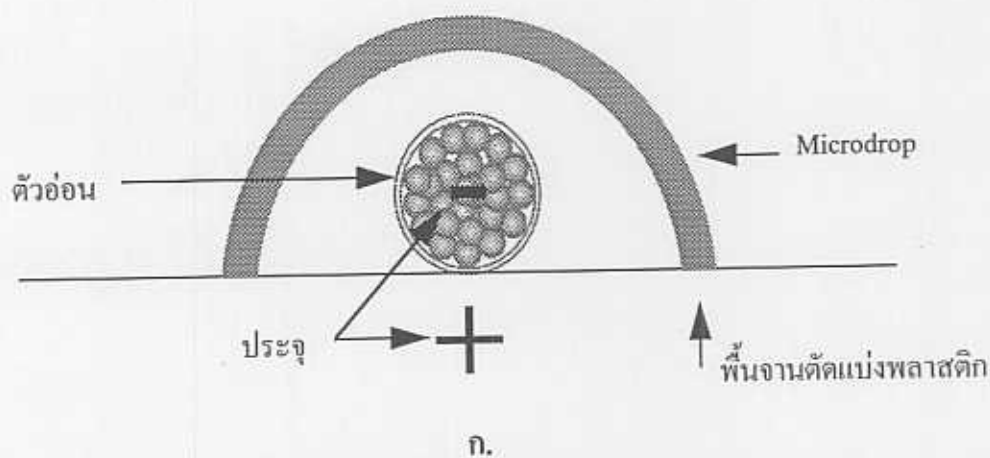
ภาพผนวกที่ 3 ตัวอย่างการจำแนกคุณภาพระดับต่างๆ ของตัวอ่อน

ก. ตัวอ่อนคุณภาพระดับดีเยี่ยม

ข. ตัวอ่อนคุณภาพระดับดี มีเซลล์ผิดปกติเล็กน้อย (1)

ค. ตัวอ่อนคุณภาพระดับพอใช้ มีเซลล์ผิดปกติประมาณ 10-30 เปอร์เซ็นต์ (2)

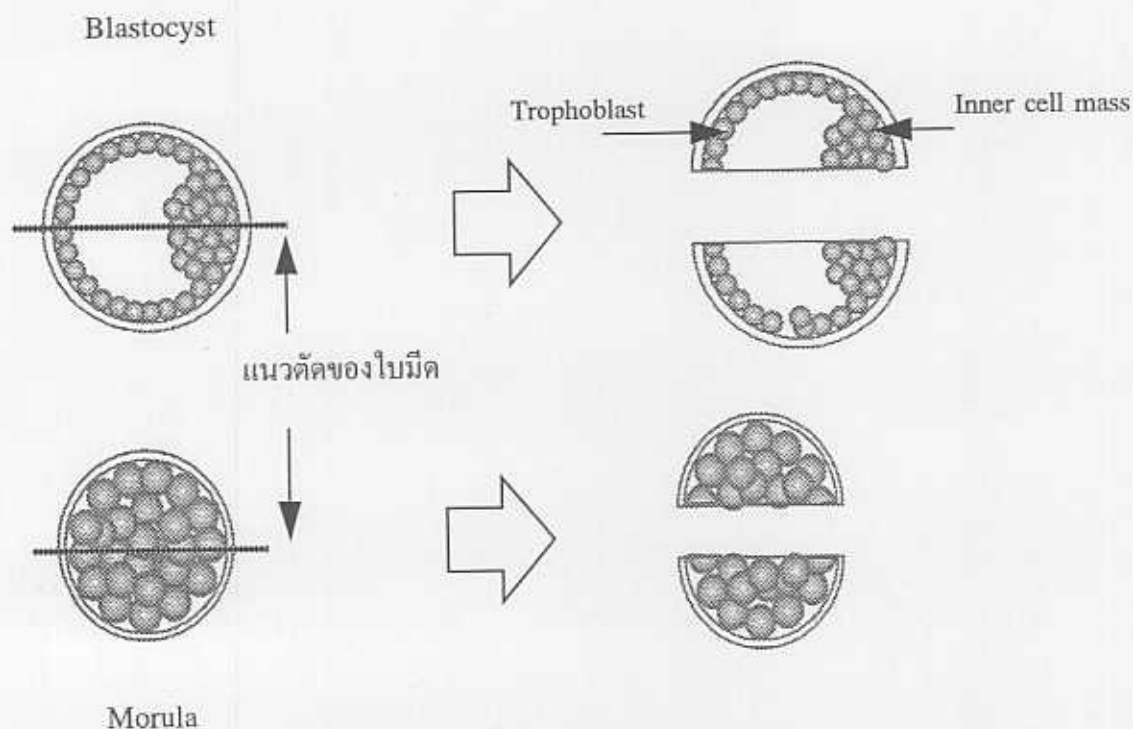
ง. ตัวอ่อนคุณภาพระดับเลว (ในภาพเป็นไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ)



ภาพผนวกที่ 4 เทคนิคในการตัดแบ่งครั้งตัวอ่อน

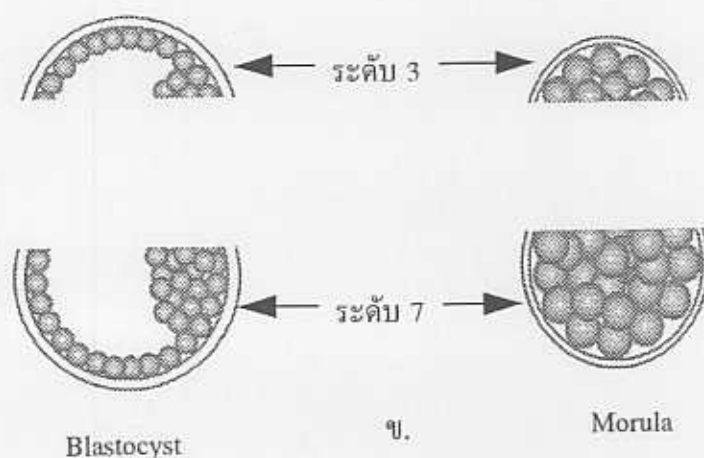
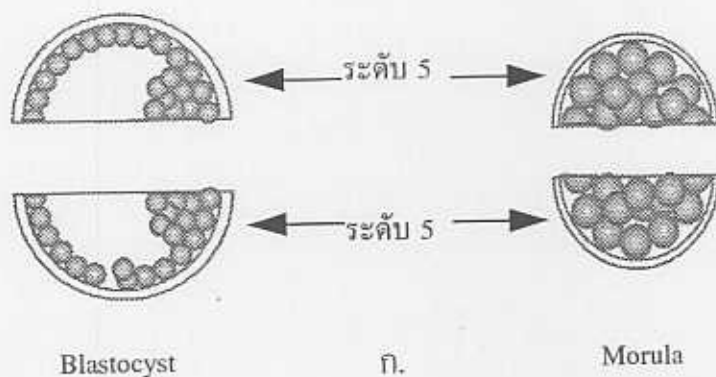
ก. การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนโดยใช้น้ำยาตัดแบ่งตัวอ่อน ตัวอ่อนที่มีประจุเป็นลบ จะลงไปติดที่พื้นงานตัดแบ่งตัวอ่อนพลาสติกที่มีประจุเป็นบวก

ข. การตัดแบ่งครั้งตัวอ่อนโดยวิธีทำรอยบากที่พื้นงานตัดตัวอ่อน โดยตัดแบ่งใน น้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน



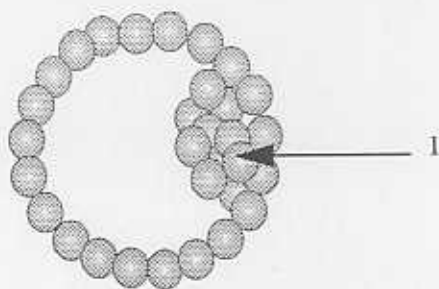
ภาพผนวกที่ 5 การตัดแบ่งครึ่งตัวอ่อนระยะ morula และ blastocyst

ตัวอ่อนระยะ blastocyst ต้องตัดแบ่งให้ส่วน inner cell mass และ trophoblast มีสัดส่วนเท่ากัน ตัวอ่อนระยะ morula ตัดแบ่งในแนวใดก็ได้ให้ได้ 2 ส่วนที่เท่ากัน

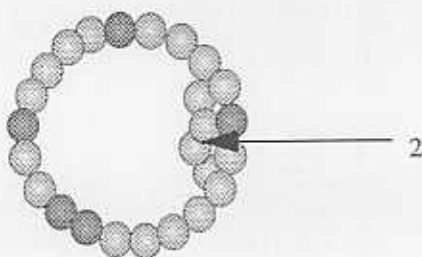


ภาพผนวกที่ 6 ตัวอย่างสัดส่วนจำนวนเซลล์ของตัวอ่อนแพะตัดแบ่งครั้งที่ได้จากการตัดแบ่งครั้ง

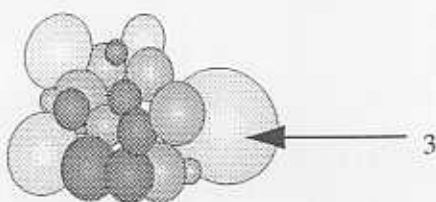
- ก. ตัวอ่อนระยะ blastocyst และ morula ที่ตัดแบ่งได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ มี สัดส่วนจำนวนเซลล์อยู่ในระดับ 5 (มีสัดส่วนเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนปกติ)
- ข. ตัวอ่อนระยะ blastocyst และ morula ที่ตัดแบ่งได้ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งที่ มี สัดส่วนจำนวนเซลล์อยู่ในระดับ 3 และ 7 (มีสัดส่วนเท่ากับ 30 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอ่อนปกติ)



ก.



ข.



ค.

ภาพผนวกที่ 7 คุณภาพตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งหลังเลี้ยงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อน

ก. คุณภาพระดับ 2 ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งพัฒนาเป็น blastocyst อีกครั้ง มองเห็น inner cell mass (1) ได้ชัดเจน พิจารณาว่ามีชีวิตรอด

ข. คุณภาพระดับ 1 ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งพัฒนาเป็น blastocyst อีกครั้ง มองเห็น inner cell mass (2) ได้ไม่ชัดเจน แต่ยังพิจารณาว่ามีชีวิตรอด

ค. คุณภาพระดับ 0 ตัวอ่อนตัดแบ่งครั้งไม่มีการพัฒนาเป็น blastocyst อีกครั้ง อาจมีการเกิดถุงน้ำบริเวณรอบนอก (3) ของตัวอ่อนตัดแบ่งครั้ง พิจารณาว่าไม่มีชีวิตรอด